

ЦИТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА КАНДЕСАРТАНА И РЕСВЕРАТРОЛА В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.В. Беляева, В.Ю. Афонин, М.В. Анисович, А.К. Власенко

*ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
ул. Академика В.Ф. Купревича, д. 5, к. 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь
E-mail: Aleksandra447@yandex.ru*

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) стали самыми распространенными патологиями в современном мире. Данные заболевания связаны с нарушением нормального функционирования сердечно-сосудистой системы. В настоящее время ССЗ – основная причина смертности населения во многих экономически развитых странах, причём наблюдается тенденция к развитию патологий у людей более молодого возраста. Поэтому исследователи во всем мире работают над созданием новых эффективных и безопасных препаратов для лечения ССЗ.

В представленной работе изложены результаты исследования влияния физических нагрузок и последующего применения кандесартана цилексетила, который является антагонистом рецепторов ангиотензина II и применяется в качестве антигипертензивного средства длительного действия, и природного антиоксиданта ресвератрола на молекулярно-биологические параметры костного мозга и крови животных.

Материалы и методы. В работе использовались крысы линий SHR и WKY, а также мыши линии Balb/C. Крысы подвергались физическим нагрузкам в течение 2 недель (плавание), после чего анализировались основные молекулярно-биологические параметры костного мозга и периферической крови животных. Мыши линии Balb/C подвергались физическим нагрузкам (плавание) в течение 2 месяцев, а затем длительно получали кандесартан цилексетил и ресвератрол в различных дозировках и комбинациях в течение 2 месяцев. Далее проводилось исследование изменений молекулярно-биологических показателей крови с помощью цитометрического анализа.

Анализ содержания ДНК проводили в клетках, предварительно фиксированных в этаноле. Образцы клеток отмывали дважды ФСБ (фосфатно-солевым буфером), фиксировали в охлажденном этаноле (70%) и хранили при -20°C до проведения эксперимента. Фиксированные в этаноле клетки отмывали ФСБ, обрабатывали раствором РНК-азы (150 Ед/мл) и окрашивали раствором PI (пропидиум иодид, 50 мкг/мл) в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем образцы анализировались с помощью цитометрического анализа (использовали проточный цитофлуориметр Cytomics FC 500 «Beckman Coulter», США).

Количество клеток с признаками апоптоза рассчитывали на основании измерения гиподиплоидной ДНК, окрашенной иодистым пропидием (50 мкг/мл). Регистрировали апоптотические клетки с содержанием ДНК менее 2n.

Полученные результаты анализировались с помощью программы Statistica.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования влияния физических нагрузок на молекулярно-биологические параметры костного мозга и периферической крови крыс линий SHR и WKY представлены в таблицах 1 – 4.

Установлено, что после физических нагрузок у крыс линии SHR наблюдается увеличение количества клеток, находящихся в G_2/M фазах клеточного цикла по сравнению с таковыми показателями животных контрольной группы ($P < 0,05$) (таблица 1). Данный параметр увеличивается при усилении процессов пролиферации и/или аресте клеток с повреждениями ДНК. Клетки с повреждениями ДНК элиминируются в костном мозге и других отделах системы кроветворения. Существенных различий в молекулярно-биологических параметрах периферической крови крыс линии SHR отмечено не было (таблица 2).

Таблица 1 – Результаты анализа молекулярно-биологических параметров костного мозга крыс линии SHR после физических нагрузок

№	Группа	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
1	контроль	67,12 ± 9,18	32,78 ± 9,23	0,10 ± 0,09
2	плавали	77,87 ± 4,30	19,78 ± 3,40	2,35 ± 1,11*

* – различия между группами P<0,05

Таблица 2 – Результаты анализа молекулярно-биологических параметров периферической крови крыс линии SHR после физических нагрузок

№	Группа	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
1	контроль	98,37 ± 0,23	1,04 ± 0,28	0,59 ± 0,28
2	плавали	97,61 ± 0,58	1,85 ± 0,57	0,54 ± 0,35

В ходе исследования влияния плавания на показатели клеточного цикла костного мозга и периферической крови крыс линии WKY было показано, что значения изучаемых параметров опытной и контрольной групп не отличались достоверностью (таблицы 3 и 4).

Таблица 3 – Результаты анализа молекулярно-биологических параметров костного мозга крыс линии WKY после физических нагрузок

№	Группа	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
1	контроль	55,36 ± 2,58	39,74 ± 1,89	4,91 ± 3,12
2	плавали	62,33 ± 3,29	34,99 ± 4,22	5,24 ± 3,21

Таблица 4 – Результаты анализа молекулярно-биологических параметров периферической крови крыс линии WKY после физических нагрузок

№	Группа	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
1	контроль	97,18 ± 0,70	0,67 ± 0,19	2,16 ± 0,63
2	плавали	96,55 ± 1,18	0,75 ± 0,18	2,70 ± 1,06

Результаты анализа влияния длительных физических нагрузок (группы 3 – 8) и последующего введения мышам линии Balb/C кандесартана циклксетила и ресвератрола в различных дозировках и комбинациях представлены в таблице 5. Выявлено, что чрезмерные физические упражнения приводят к увеличению количества клеток с признаками апоптоза и микроядрами. Также наблюдается снижение пролиферативной способности клеток, что проявляется накоплением последних в G₀/G₁ фазах клеточного цикла. При сочетанном введении мышам исследуемых субстанций происходит достоверное снижение числа клеток с повреждениями ДНК по сравнению с контрольной группой 2 животных, которым не вводили исследуемые вещества. Кандесартан циклксетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 10 мг/кг снижают количество клеток с признаками апоптоза и микроядрами по сравнению с введением монопрепарата кандесартана в дозах 3 мг/кг или 1,5 мг/кг (P<0,05). Необходимо отметить, что микроядра в данном случае имеют апоптотическую природу происхождения.

Таблица 5 – Результаты анализа молекулярно-биологических параметров периферической крови мышей линии Balb/C после физических нагрузок и введения кандесартана циклксетила и ресвератрола

	Группа	апоптоз, %	G ₀ /G ₁ , %	S, %	G ₂ /M, %	микроядра, %
1	контроль 0 (до эксперимента)	0,96±0,22	66,28±2,08	24,95±1,21	8,77±2,44	0,35±0,02
2	контроль 1 (интактный)	2,29±0,52	59,39±1,79	31,09±2,44	9,52±1,66	0,62±0,10
3	контроль 2 (плавал)	7,17±0,57	77,21±1,15	15,86±1,54	6,93±1,52	3,01±0,18

4	канд.3 мг/кг	5,39±0,40	70,35±2,41	23,29±1,89	6,36±1,01	2,45±0,19
5	канд.1,5 мг/кг	6,03±0,47	68,43±1,25	23,84±1,35	7,72±1,42	2,64±0,19
6	канд.1,5 мг/кг и ресв. 10 мг/кг	3,26±0,35	62,74±3,20	28,46±1,84	10,56±2,82	1,39±0,17
7	канд.1,5 мг/кг и ресв. 30 мг/кг	4,38±0,47	69,64±2,36	20,84±1,99	9,52±2,30	1,78±0,29
8	канд.1,5 мг/кг и ресв. 50 мг/кг	4,56±0,35	69,32±2,47	25,08±2,04	5,60±1,88	2,11±0,17
		P1 – 2<0,05 P1 – 3<0,05 P1 – 4<0,05 P1 – 5<0,05 P1 – 6<0,05 P1 – 7<0,05 P1 – 8<0,05 P2 – 3<0,05 P2 – 4<0,05 P2 – 5<0,05 P2 – 7<0,05 P2 – 8<0,05 P3 – 4<0,05 P3 – 6<0,05 P3 – 7<0,05 P3 – 8<0,05 P4 – 6<0,05 P5 – 6<0,05 P5 – 8<0,05	P1 – 3<0,05 P2 – 3<0,05 P2 – 4<0,05 P2 – 5<0,05 P2 – 7<0,05 P2 – 8<0,05 P3 – 4<0,05 P3 – 5<0,05 P3 – 6<0,05 P3 – 7<0,05 P3 – 8<0,05	P1 – 3<0,05 P2 – 3<0,05 P2 – 5<0,05 P2 – 7<0,05 P3 – 4<0,05 P3 – 5<0,05 P3 – 6<0,05 P3 – 8<0,05 P6 – 7<0,05		P1 – 2<0,05 P1 – 3<0,05 P1 – 4<0,05 P1 – 5<0,05 P1 – 6<0,05 P1 – 7<0,05 P1 – 8<0,05 P2 – 3<0,05 P2 – 4<0,05 P2 – 5<0,05 P2 – 6<0,05 P2 – 7<0,05 P2 – 8<0,05 P3 – 4<0,05 P3 – 6<0,05 P3 – 7<0,05 P3 – 8<0,05 P4 – 6<0,05 P5 – 6<0,05 P5 – 7<0,05 P6 – 8<0,05

Также следует отметить, что при совместном использовании кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозе 10 мг/кг снижается количество клеток в G₀/G₁ фазах клеточного цикла по сравнению с контролем 2 (P<0,05), причем данные соответствуют таковым интактной группы. Выявлено значительное увеличение процента клеток в S фазе клеточного цикла во всех группах мышей, получавших изучаемые субстанции (кроме тех, которым давали кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 30 мг/кг) по сравнению с животными, которые подвергались физическим нагрузкам без дальнейшего введения веществ.

Заключение. Установлено, что изнурительные физические нагрузки ведут к угнетению процессов пролиферации и накоплению клеток с повреждениями ДНК в периферической крови. Введение кандесартана цилексетила и ресвератрола восстанавливает исследуемые параметры, что свидетельствует о протекторных свойствах выбранных субстанций.

CYTOPROTECTIVE PROPERTIES OF CANDESARTAN AND RESVERATROL UNDER PHYSICAL TRAINING IN EXPERIMENT

A.V. Beliayeva, V.Yu. Afonin, M.V. Anisovich, A.K. Vlasenko

The Institute of Bioorganic chemistry NAS of Belarus

Summary

At present study we investigate the influence of physical training (swimming) on molecular-biological parameters of cells from bone marrow and peripheral blood of SHR and WKY rats and Balb/C mice. It's shown that swimming during 2 weeks doesn't change distribution of bone marrow cells and cells from blood of SHR and WKY rats. Physical training during 2 months increases the number of micronuclei and apoptotic cells, leads to changes in molecular-biological parameters of cells from peripheral blood in Balb/C mice. It is found that candesartan and resveratrol at different dosages and combinations protect blood cells from damage after physical training.